

29

ching by Document Number

result [Patent] \*\* Format(P801) 29. Oct. 2001 1/ 1  
 application no/date: 1990-336850[1990/11/30]  
 site of request for examination: [1997/11/28]  
 public disclosure no/date: 1991-226666[1991/10/07]  
 examined publication no/date (old law): [ ]  
 registration no/date: [ ]  
 examined publication date (present law): [ ]  
 JT application no: [ ]  
 JT publication no/date: [ ]

applicant: UNIV LELAND STANFORD JR

inventor: RICHIIYAADO ENU ZEA, JIYONASAN BAN SHIKURE SUUIIDORAA, TSUDA TAKAO

PC: G01N 27/447 G01N 27/447

expanded classification: 462

fixed keyword: R002

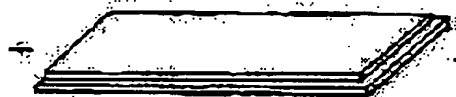
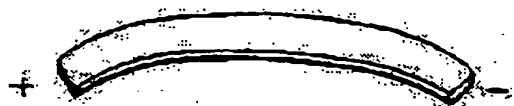
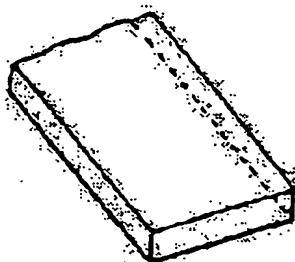
title of invention: RECTANGULAR CAPILLARY TUBE DEVICE FOR CAPILLARY TUBE ELECTROPHORESIS METHOD AND 2-D SEPARATION  
 abstract:

PURPOSE: To enable 2-d separation in capillary tube electrophoresis method by using a capillary tube wherein an inside area has a rectangular section shape of almost specified size.

CONSTITUTION: The inner size of a rectangular capillary tube used for a device is 100-200 $\mu$ m $\times$  about 200-400 $\mu$ m or more, preferably 50 $\times$ 100 $\mu$ m. For a molten material to move in the device, a high positive/negative voltage is applied at both ends of the capillary tube. Various shapes of rectangular capillary tubes are used. For example, as for a flexible rectangle, a thin one can easily be put in two buffer vessels. A very thin and strict channel may be formed between two plates for a constitution. With such a rectangular capillary tube as this, no thermal radiation is present which obstructs application of capillary tube electrophoresis method (CE) wherein bulk process is performed. In addition, a flat wall surface has less optical distortion compared with the wall surface of circular capillary tube. Thus, 2-D separation is possible with CE.

COPYRIGHT: (C)1991, JPO

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平3-226666

⑬ Int. Cl.<sup>3</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成3年(1991)10月7日

G 01 N 27/447

7235-2G G 01 N 27/26  
7235-2G3 3 1 Z  
3 3 5 B

審査請求 未請求 請求項の数 13 (全10頁)

⑮ 発明の名称 毛細管電気泳動法のための矩形毛細管装置および矩形毛細管装置を用いた2次元分離方法

⑯ 特 願 平2-336850

⑰ 出 願 平2(1990)11月30日

優先権主張 ⑱ 1990年1月26日 ⑲ 米国(US) ⑳ 470390

㉑ 発 明 者 リチャード エヌ. ゼ アメリカ合衆国、94305 カリフォルニア州 スタンフォード、サンタ イネス 724

㉒ 出 願 人 ゼ、ボード、オブ、ト アメリカ合衆国、94305-6225 カリフォルニア州 スタンフォード、セラ ストリート 857、セカンド フロア  
ザ、リーランド、スタ  
ンフォード、ジュニ  
ア、ユニバーシティ

㉓ 代 理 人 弁理士 井ノ口 壽  
最終頁に続く

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

毛細管電気泳動法のための矩形毛細管装置  
および矩形毛細管装置を用いた2次元分離方法

## 2. 特許請求の範囲

(1) 光学検出を利用する毛細管電気泳動法に用いる装置であって、その装置は細長い断面を持つ毛細管を持つ毛細管装置。

(2) 請求項1記載の毛細管装置において、前記毛細管は、透明な部分を持っている毛細管装置。

(3) 請求項1記載の毛細管装置において、前記断面は、実質的に矩形である毛細管装置。

(4) 請求項3記載の毛細管装置であって、前記矩形の断面形状の内部の大きさは

(ほぼ10から200ミクロン) × (少なくとも約200ミクロン) である毛細管装置。

(5) 請求項1記載の毛細管装置であって、前記毛細管は折り曲げられて、波状構造が与えられている毛細管装置。

(6) 請求項3記載の毛細管装置であって、前記矩

形状の断面形状はほぼ50ミクロン×1000ミクロンである毛細管装置。

(7) 請求項1記載の毛細管装置であって、前記チューブの中には複数の溶質を含む液体が満たされており、その溶質は毛細管の長さに沿って印加される電界中において、異なった速さで移動するものであり、前記装置はさらに、毛細管を横断する傾きを提供するものである毛細管装置。

(8) 請求項7記載の毛細管装置であって、前記傾きは温度差、PH差、または電界の差、磁界の差、または重力の差である装置。

(9) 請求項7記載の毛細管装置において、前記溶質の2次元分離を計測するための検出装置がさらに設けられている毛細管装置。

(10) 矩形毛細管で2次元の分離を行う装置のための検出装置であって、前記毛細管通路の一方側に多数チャンネル検出アレイが配置され、他方側には光源が配置されている矩形毛細管で2次元の分離を行う装置のための検出装置。

(11) 光学検出を用いる毛細管電気泳動を利用する

装置に用いる装置で、平坦で固くかつ、非常に薄いチャンネルを2枚の透明板間に形成したものを含む装置。

02 請求項1記載の装置であって、前記2枚の板間の距離はほぼ10～200ミクロンである装置。

03 2次元分離を行う方法であって、長細い形状または矩形状の断面を持つ毛細管を準備する工程と、

前記毛細管の中に複数の溶質を持つ液体を導入する工程と、

前記毛細管の両端間に第1の傾斜を印加する工程と、

前記チューブを横切る第2の傾斜を与える工程と、

前記第1および第2の傾斜によって、発生させられた溶質の分離を検出する工程とからなる2次元分離方法。

### 3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

さらにまた、円形の毛細管にあつては、極端に濃度の低い応用には利用できない。

すなわち、CEの質量的な感度は、特筆すべきものであるが、その検出方法が依然としてこの技術のアキレス腱(弱点)となっている。

100ミクロンの毛細管において低い濃度を検出する能力については困難がある。

特に、それが通常の紫外から可視光(UV—Vis)への吸収光度の技術を利用する場合において起こり得ることである。

通常の円柱毛細管に関連するさらに他の固有の問題は、毛細管の壁面の局面によって生ずる光学的な歪みである。

この問題は特に光学的な検出手段が利用されるときに重要である。例えば、溶液(液体)—壁の界面における曲率または壁と外気(検出器)の界面が屈折率、または光学偏光の測定に悪い影響を与える場合であろう。

さらにまた、直接計数を採用するとき、毛細管の曲率が不正確な計数の原因となることである。

本発明は一般的には毛細管装置、特に毛細管電気泳動法(以下単にCEと言う。)に適する毛細管装置、さらに詳しく言えば、毛細管ゾーン電気泳動法(以下単にCZEと言う。)に関する。電気泳動法は、多岐に渡る複合混合物の分析のために最も有力な分離技術である。

この技術は、良い特性を示す液体クロマトグラフィよりも、より高い改造能力を用いるものであり、さらにCEの対象としてはナノリットル程度の試料を分析することが可能である。

過去においてCEにおける分離は内径が5～200ミクロンの円形の毛細管によりほとんど独占的に行われていた。

毛細管の小さな外径は非常に高い熱分散を許容するが、毛細管の大きさが直径が100ミクロンを越えて増加すると、劇的な分離効率の低下が観察される。

したがって、CEはその毛細管の外側を熱移送流体によつての冷却効果を伴う場合であっても、大きな径のものを用いることはできない。

細い毛細管におけるCZEは、溶液の分離に有効な方法であることが証明されている。電界質を含んでいる溶液が入れられている毛細管チューブの両端間に電界が印加される。

この電界により電界質は管の中を流れるようになる。

ある種の溶質は他の溶質に比較してより高い電気機械的な移動度を持っているから、その溶質は毛細管を流れる電解質の流れにおいて、溶液の領域を形成する。

しかしながら、電極間に流れるイオン電流によるジュール熱が温度勾配を発生させ、引続き対流と温度密度勾配を発生させるから、領域の拡大化が発生し、それが電気泳動移動度に影響を与え、溶液の沸騰に導くことさえもある。

CEにおいて、大量の処理をし、かつ、熱を有効に放散しなければならないという毛細管についての臨界的な要求が存在する。

さらにまた、低い濃度の試料の検出を容易にするために、相当な長さを持つ毛細管装置が要求され

る。さらにまた、毛細管装置は光学的な歪みが極小でなければならない。

最終的には現存する円柱状の毛細管は2次元のCE分離には適していない。

このような要求を満たすことができる毛細管装置についての要求が存在する。

#### (発明の要約)

本発明による装置は、毛細管電気泳動に利用するものである。この装置は断面が細長い形状の断面を持ち、検出点において透明である。

好ましい実施例においては、毛細管は矩形の断面形状を持ち、その内側の面積はほぼ $50 \times 100$ ミクロンの大きさである。

以下、この発明による装置を矩形の毛細管と呼ぶ。種々の形状の矩形毛細管の応用が可能であろう。これらは、可撓性の毛細管、非常に薄いチャンネルが板の間に形成されたものや、波状構造のものを含む。矩形毛細管においては、大量の処理を行うCEの応用の障害となっていた悪い熱放散はもはや存在しない。

明する。

細長く、または矩形の断面を持つ毛細管は円柱状の毛細管に比較して容積に対する大きな表面率を持つゆえに、熱放散についてより効率的であり、かくして大きな(大量)、比較できる解像度を持って、相当な解像度を持つにも関わらず、大きな毛細管を利用することができる。

この矩形の形状は、サンプルの大きさをかなり大きくすることができるのであって、これは予備的な応用のためにCEを配慮するときには、極めて重要な増加量となる。

本発明による、矩形毛細管の内側の大きさは $10 \sim 200$ ミクロン $\times$ 約 $200 \sim 400$ ミクロンまたはそれ以上のものである。

本発明による毛細管は、現在円柱状の毛細管に使用されている材料、すなわち熔融シリカまたはボロン硅素ガラスを用いることができる。

矩形の毛細管が第1図に示されている。

高い正負(±)の電圧が、毛細管の両端に、溶融物質を装置の中で移動させるため、印加されてい

くわうるに光学的検出技術が利用される場合において、セルの中の光学的通路の増大は感度検出における優位な改良点となる。

この特徴はレーザで誘起される蛍光、旋光、および他の光学的通路に従属する検出のもくろみに対して重要である。

平坦な壁面は円形の毛細管の壁面と比較すれば、より光学的歪みが少ない。

このことは、柱状体における検出が屈折率の測定や、光学的偏光、または直接的な目視による、または粒子の計測による場合において特に重要となる。

毛細管電気泳動法は矩形の毛細管を使用することにより、2次元的な分離を可能にする。

毛細管の長さに沿って、電界を発生させながら、矩形の毛細管のチャンネル分離方向に沿って、任意の傾きを創造することによって2次元分離を可能にする。

#### (実施例)

以下図面等を参照して本発明をさらに詳しく説

る。

種々の大きさの矩形の毛細管が利用される以外に、本発明においては他の異なった形状の毛細管が利用できる。

例えば、第2図には、可撓性の矩形毛細管が示されており、例えばこれは容易に2つのパッファ容器の中に入れることができる。第3図は、非常に薄く、しかも厳格なチャンネルが2つの板の間に形成されて構成されている矩形毛細管を示している。

これらの板は熔融シリカ、またはセラミック、ガラス、またはテフロン(4弗化エチレンを重合して製造した合成樹脂の商品名)により製造することができる。極めて薄いチャンネルを製造する方法は、熔融シリカのエッチングであり、さらに他の方法は、薄いテフロンをスペーサとして用いることである。

板の間の距離は、ほぼ $10 \sim 200$ ミクロンである。

最後に第4図は、矩形毛細管を折り曲げることに

よって、波板構造を形成したものであり、それは大きな断面領域を形成できるものを示している。明らかに、この波板状の配列は事実上、延長されたクロスセクションを持っていない。

この折り曲げられた構造は、可撓性の矩形毛細管とか、平らで対応の極めて薄いチャンネルを持つものと比べて、同じ光学的通路の特徴を持ってはいないが、この波板配列は予備的な仕事のために有効である。

矩形毛細管を用いるCEにおける、検出感度増強の程度は、理論的には、吸収とか、抵抗とか、旋回の2色性が利用される光路の増加に比例するものである。

例えば、 $50 \times 1000$ ミクロンの矩形毛細管で1000ミクロンの光路を提供するものであり、その結果、50ミクロンの光路の毛細管と比較すれば、10倍以上の増大が得られる。

このように増加させられた感度は、以下の実験例によって示される。

スプリットレシオ (Split ratio)  
114

注入ループ (Injector's loop)  
5  $\mu$ l

レコーダ 毎分1センチメートル

フルスケールは0.02光学濃度 (O. D.)

印加電圧は7.92 kVで、電流は107  $\mu$ A

柱の形状は  $50 \times 1000 \mu$ mの矩形であって  
柱の長さ 50 cm

第5図は、実験例Iを示しており、検出装置からの放射は毛細管の矩形断面図の高さ方向にその透明なスリットまたは透明な部分を貫いて通過し、これにより50  $\mu$ mのセルの光学的通路を提供している。

第6図は、第1図に記述された形状の検出で得られた電気泳動法のグラフである。

#### 〔実験例II〕

実験例Iで示したのと全く同じ形状のCZE装置とテストサンプルを用いたCZE分離は、以下の条件によって行われた。

#### 〔実験例I〕

$50 \times 1000$ ミクロン (矩形内側の大きさ)

の矩形毛細管で、弗化硅素ガラス (ニュージャージー州のブエナのウイルマード ガラス 会社) を用いて製造した実験的なCZE装置。

サイエンス244 (1988年) [Science, 244, 1988] のゴードン等によるCZE装置への記述および

ファン等による分析化学61; 7, 766 (1989年) [Anal. Chem., 61; 7, 766 (1989)] の吸収検出器についての記述を参照されたい。

試料は、ピリドキシン(1)  $2.5 \times 10^{-3}$  Mと  
ダンシレイテッド(2) (= dansylated)  
Lサリーン  $2.9 \times 10^{-3}$  M

CZE分離は以下の条件によって行われた。

セル: 光路長50  $\mu$ m

スリットは  $50 \times 800 \mu$ m

スプリットフロー (Split flow)  
0.5 mm l

セル: 光路長 1000  $\mu$ m

スリット  $50 \times 100 \mu$ m

スプリットフロー0.5 mm l 毎分

スプリットレイション114

注入ループは5  $\mu$ l

レコーダ: 1 cm 毎分

フルスケール: 0.02 光学濃度

印加電圧は9.48 K v, 電流は111  $\mu$ A

柱の形状  $50 \times 100 \mu$ mの矩形

柱の長さ 64 cmである。

第7図は実験例IIを示している検出装置からの放射は毛細管の両側に設けられた透明なスリットを介して幅方向に貫通するものであり、これにより1000  $\mu$ mのセル光路長を得ている。

第8図は実験例IIの形状の検出によって得られた電気泳動法のグラフである。

#### 〔実験例III〕

実験例IIで記述されている同じCZE装置とテストサンプルを用いたものであり、実験例IIにおいて示した条件と以下の条件だけが異なる。



レコーダ：フルスケールは0.1光学濃度

電流：113  $\mu$ A。

第9図は実験例Ⅲで記述される形状の検出において得られた電気泳動法のグラフである。

実験例ⅠとⅡで得られた電気泳動法を示すグラフ（第6図と第8図を各々参照されたい。）の比較により、これらは同じ感度の検出器によって得られたものであったが、実験例Ⅱより大きな光路長のものから得られる感度がかなり高くなっていることがわかる。

光路長の増大に起因する感度の増加は実験例Ⅰの電気泳動法によるグラフと、実験例Ⅲ（第9図）と比較することにより、後者がより低い検出感度によって得られたものであるにも関わらず、増加が図示されている。

セルの光路長の増加に原因するところの利得の増加はそれらの電気泳動法のグラフから容易に算出することができる。

セルの光路長の増加に原因する検出感度の改良は、サンプルの濃度が低いときに極めて顕著に認

められる。

例えば、50  $\mu$ mの光路長を持つ矩形毛细管において十分に検出できるだけのサンプルの濃度を持っているときに、1000  $\mu$ mの光路長の矩形毛细管を用いるならば、利得はほぼ20倍増加することが観察される。

#### 〔実験例Ⅳ〕

実験例Ⅱに記述されている50  $\times$  1000  $\mu$ m毛细管の装置を用いたCZE装置によって、CZE分離が以下の条件において行われた。

試料：ピリドキシン(1)  $1 \times 10^{-4}$  M

ダンシレイテッド(2) (= dansylated)

レサリール  $2.9 \times 10^{-3}$  M

$1 \times 10^{-4}$  M

バッファ：5 mMのフォスフェイトバッファで5%のエチレングリコールを含む。

セル：光路長1000  $\mu$ m

スリット50  $\times$  100  $\mu$ m

印加電圧7.68 kV 電流75  $\mu$ A

検出：310 nm 0.01光学濃度フルスケール

この例における濃度は極めて低いものであって、通常の円柱状の毛细管を用いる毛细管電気泳動法においては満足な結果は得られない。

しかしながら、長い光路長を持つ矩形毛细管においてはこのような低い濃度においても現実的な検出が可能である。

第10図に実験例Ⅳに記述されている形状の検出で得られた電気泳動法によるグラフを示している。

CZEで紫外から可視領域(UV-Vis)における吸収度測定技術の改善に加えて、光路長の増大に関連して矩形毛细管はレーザ誘起光、旋光やその他の光路長に依存する検出の試みに重要である。

矩形毛细管の壁は局面ではなくて平坦であるために従来の円筒の毛细管に比べて光学的歪みが小さい。このことは検出のために屈折率とか光学的な偏光がパラメータとして用いられる場合に重要である。

最後に、矩形毛细管を用いるCZEは、2次元の

分離を可能にしている。

例えば、第11図に示されているように磁石2が矩形毛细管4の分離チャンネル中に磁界を発生するために用いられる。もし、電界が毛细管の長さ方向に供給されるならば2次元分離が発生する。第12図は、3つの溶質A(●)、B(○)、およびC(X)を含む試料の仮想的な2次元分離について図示している。

X軸は前記溶質が毛细管に沿う電界に原因する移動とY軸は毛细管を横切る磁界の影響による溶質の移動を示している。

試料は数字6の示す場所で毛细管内に導入されている。

図示されているように溶質Aは前記磁界に強く影響を受けており、一方溶質Bは適当な影響を受けており、そして溶質Cは影響を受けていない。

第13図は、溶質D(●)、E(○)、およびF(X)の2次元分離の溶質が矩形毛细管であって、電界がX軸方向に、そして重力がY軸方向に働く場合についての仮定的な2次元分離について

図示している。

試料は毛細管で8の数字の示す位置から導入されている。この例において、溶質Dはすなわち大きな粒子であって、高い密度を持っており、重力によって強い影響を受けている。Eは適当な影響を受けており、そしてFは明らかに重力による影響を受けていない。

2次元の分離は、PHとか温度とかあるいは他の勾配等が溶質に影響することを利用することによって実現できる。

2次元分離においては、吸収検出器、蛍光検出器、ラマン質量スペクトル検出器、電気化学的検出器、および質量スペクトル分析器を利用することができる。

第14図は、2次元分離のための装置の検出器の斜視図を示している。図示されているように光源10は矩形の毛細管分析柱12の一方側の幅に沿って広がっている。

柱状体12の反対側の面には、毛細管の幅に沿って通過する溶質の位置と強度を測定するための他

チャンネルの検出器アレイ14が設けられている。他チャンネルの検出器アレイはかくして溶質が傾斜、例えば磁界、例えば矩形毛細管を横切って形成される磁界の傾きによって影響されるかを測定する。

オブションとして第2の光源16が、この柱状体を横切るように毛細管柱の側面に沿って配置されている。柱状体の反対側の面には検出器18が設けられている。

検出器18は光路長に関連して生ずる全体としての溶質の密度を計るために機能させられる。

本発明は好的な特定の実施例に関連して説明されてきたが、この説明に関連する記述と実験例は理解を容易にするために用いられたものであって、本発明の範囲を限定するためのものではない。そして、本発明の範囲は添付の請求の範囲によりのみ定義されるものであると理解されたい。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は、矩形毛細管を示す図である。

第2図は、可撓性形状、曲げられた形状を持つ矩

形毛細管を示す図である。

第3図は、2枚の板の間に形成された極めて薄いチャンネルを示す図である。

第4図は、矩形毛細管を折り曲げて波状の形状を構成したものを示す図である。

第5図は、毛細管の上面に形成されたスリットを持ち、そこから検出装置からの放射を導くのに適した矩形毛細管を示す図である。

第6図は、第5図に示された矩形毛細管を用いて吸光度を測定して得られた電気泳動図である。

第7図は、毛細管の側面に検出装置からの放射を導くためのスリットを設けた矩形毛細管を示す図である。

第8図は、第7図に示した矩形毛細管を用いて測定した吸収光特性により得られた電気泳動法によるグラフである。

第9図は、第7図に示した矩形毛細管を用いて得た吸収光特性の検出より得られる電気泳動図を示すグラフである。

第10図は、第7図に示す矩形毛細管を用いて得

た吸収光特性の検出より得られる電気泳動図を示すグラフである。

第11図は、分離チャンネルを横切る磁界を形成するための磁石を設けた矩形毛細管の斜視図である。

第12図は、電界および磁界を用いた2次元分離における3つの溶質のための分離パターンを示すグラフである。

第13図は、電界および重力の場の傾きを用いる2次元分離における3つの溶質の分離パターンを示す図である。

第14図は、矩形毛細管と2次元分離の検出装置を示す斜視図である。

6, 8…毛細管への試料導入位置

10…光源

12…分析柱

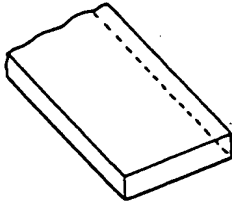
14…検出アレイ

16…第2の光源

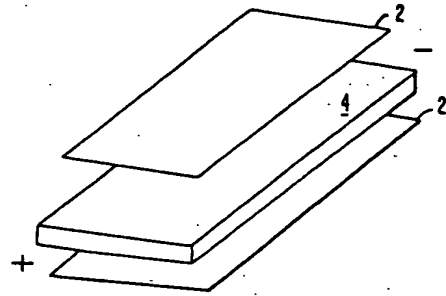
18…検出器

図面の符号(内容に変更なし)

★1 図



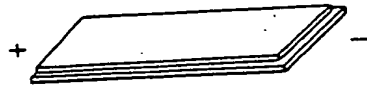
★11 図



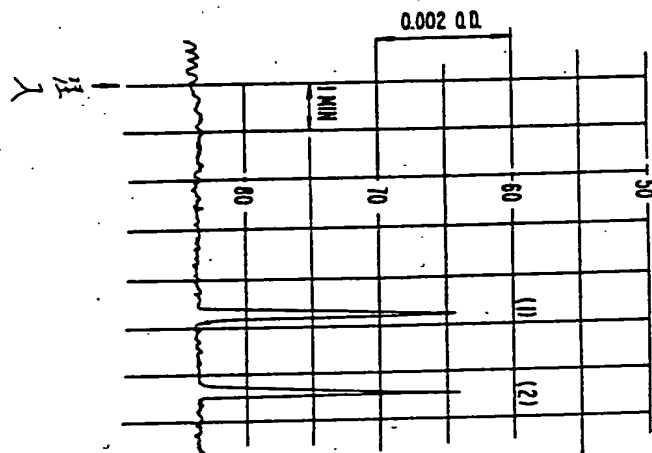
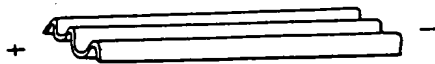
★2 図



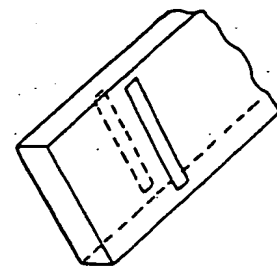
★3 図



★4 図



★6 図



★5 図

図7

図8

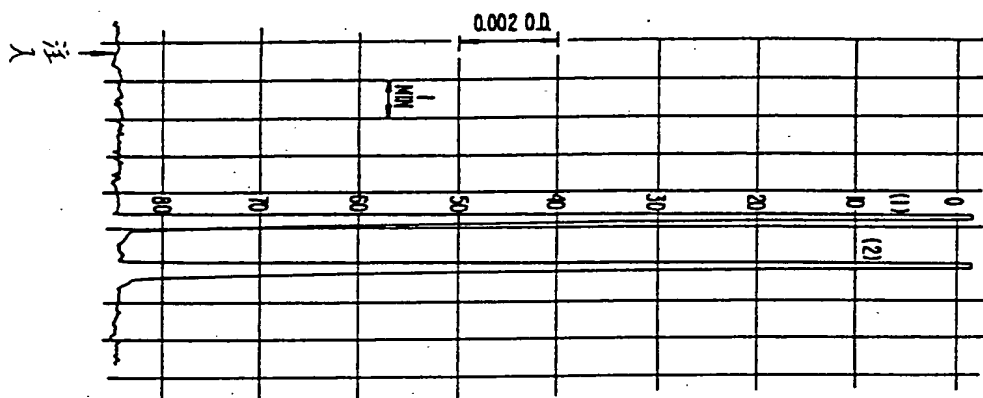
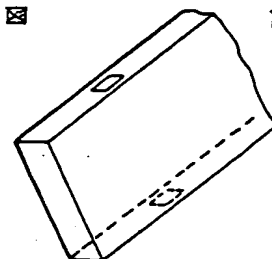


図9

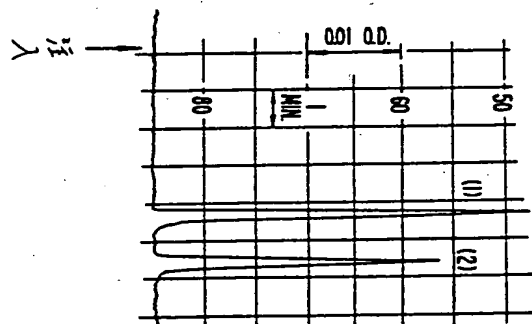
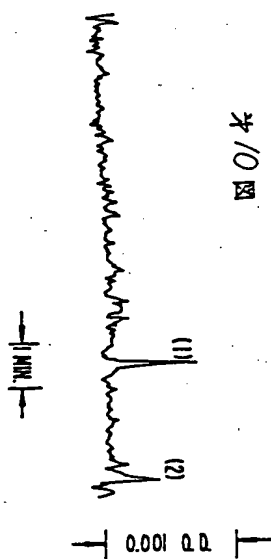
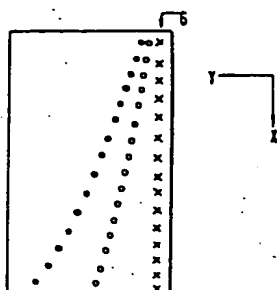


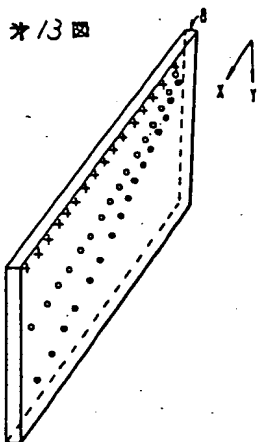
図10



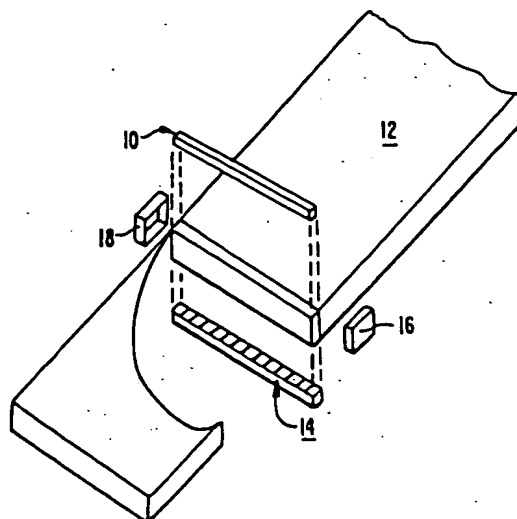
★/2 図



★/3 図



★/4 図



第1頁の続き

②発 明 者

ジョナサン ヴアン  
シクレ スウィードラ

アメリカ合衆国、94061 カリフォルニア州 レッドウツ  
ド シテイ、エンシナ アヴェニュー 309

②発 明 者

ツ ダ タ カ オ

アメリカ合衆国、94301 カリフォルニア州 ハロー ア  
ルトー、チャンニング アヴェニュー 362

## 手続補正書

平成 3 年 2 月 8 日

特許庁長官殿

## 1. 事件の表示

平成 2 年 特許願 第 3 3 6 8 5 0 号

2. 発明の名称 毛細管電気泳動法のための矩形毛細管装置  
および矩形毛細管装置を用いた 2 次元分離方法

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所

ザ、ボード、オブ、トラスティーズ、オブ、ザ、リーラ  
ンド、スタンフォード、ジュニア、ユニバーシティ

名称

## 4. 代理人

住所 西 160 東京都新宿区歌舞伎町 2 丁目 4 5 番 7 号  
大喜ビル 4 F ☎ (03) 209-1094

氏名 (7514) 弁理士 井ノ口 壽

## 5. 補正命令の日付 自 発

## 6. 補正の対象 願書、明細書、図面 および 委任状および訳文

## 7. 補正の内容

- (1) 願書の特許出願人の住所の欄および代表者の欄を補正する。  
 (2) 明細書を別紙の通り補正する。  
 (3) 図面の浄書 (内容に変更なし)。  
 (4) 委任状および訳文を補正する。

補正の内容 (平 2 - 3 3 6 8 5 0)

① 明細書第 12 頁第 15 行の「・・M」の次の行に以下を加入する。

「ダンシルクロライド (= dansyl chloride) グループが付加されたものが「ダンシレーテッド」 (= dansylated) と言われる。

例として、アミノ酸ロイシンはダンシルロイシンとなりダンシレーテッドアミノ酸と言われる。ダンシル = 5 (ジメチルアミノ) -1- ナフタレン - スルホクロリド

[dansyl = 5 (Dimethylamino) -1-naphthalen-sulfonyl chloride ]」

② 明細書第 13 頁第 4 行の「5 μl」の次の行に以下を加入する。

「ここで、本発明で使用される試料の注入方法に関連する「スプリットフロー、スプリットレイショ、インジェクションループ」等の用語について若干の説明を補充する。

本発明では、通常のクロマトグラフで用いられるスプリットインジェクション技術が用いられる。

これは、良く知られているクロマトグラフ技術 (例えば T. ツダと M. ノボトニー 分析化学 1978. 50. 251-5 参照)

(T. Tuda and M. Novotny, Analytical Chemistry 1978. 50. 251-5) で用いられている。

この技術においては、一つのインジェクションループは試料により充填され、それから試料は分離用の毛細管に導入される。

大部分の流れは前記毛細管に流入しないで排出容器に流れる。

かくして、スプリットレイショと言う言葉は、前記電気泳動毛細管に流入する試料 (溶液) に対する排出される量 (排出容器に注入される量) を言うのである。

かくして、スプリットレイショ 1:14 は 5 μl のインジェクションループの 1% 弱が毛細管に注入されることを意味する。

毛細管を流れる試料の割合はスプリットフローと言われ 0.5 ml 毎分である。」

以 上